

第390回東北医学会例会

雑誌名	東北医学雑誌
巻	128
号	1
ページ	29-43
発行年	2016-06
URL	http://hdl.handle.net/10097/00128672

平成 27 年度医学部奨学賞・東北医学会奨学賞・医学部学生奨学賞 授与式並びに第 390 回東北医学会例会

日 時：平成 28 年 1 月 15 日（金）午後 1 時 00 分から

場 所：東北大学医学部大会議室（1 号館 2 階）

1 開 会

2 挨 拶

3 審査報告

4 医学部奨学賞（金賞・銀賞）授与

【受賞者】

（金賞）

大規模臨床研究による日本の慢性心不全診療の実態解明とエビデンスの構築

循環器内科学分野 准教授 坂 田 泰 彦

原発性アルドステロン症の分子病態メカニズムの解明

病理診断学分野 准教授 中 村 保 宏

（銀賞）

獲得性クロイツフェルト・ヤコブ病の確定診断法の確立

北海道大学大学院獣医学研究科

比較病理学教室 准教授 小 林 篤 史

脳内ヒスタミン除去機構の解明

機能薬理学分野 助教 吉 川 雄 朗

5 東北医学会奨学賞授与

【奨学賞 A 受賞者】

炎症と組織修復機構に着目した難治性炎症性肺疾患の病態解明

呼吸器内科学分野 山 田 充 啓

小児がん放射線治療後認知機能障害：MRI による脳微細構造変化検出に基づく病態解明とリスク診断

放射線診断学分野 李 麗

レーザースペックル法と水素クリアランス法を用いたウサギ動物モデルでの視神経乳頭血流測定

眼科学分野 相 澤 奈帆子

【奨学賞 B 受賞者】

Nrf2 活性化による鎌状赤血球症の新規治療法の開発

医化学分野 Nadine Keleku-Lukwete

腫瘍随伴性マクロファージをターゲットとした新規悪性黒色腫治療法の開発

皮膚科学分野 柿 崎 彩

QOL の概念を取り入れた特別支援教育成果評価尺度（SNEAT）の開発と信頼性・妥当性の検証

内部障害学分野 小 原 愛 子

6 医学部学生奨学賞授与

【受賞者】

Differential effects of isoxazole-9 on progenitor cells in central nervous system

最優秀賞 5 年 高 橋 揚 子

Association of Enhanced Adventitial Vasa Vasorum Formation with Atherosclerotic Changes in the Human Coronary Arteries Adjacent to Myocardial Bridging — An Optical Frequency Domain Imaging Study —

優秀賞 6 年 王 洪 欣

Acquired Von Willebrand Syndrome in Patients Treated with Left Ventricular Assist Devices

優秀賞 6 年 斎 藤 健 貴

多様なストレス刺激に対する Keap 1 の応答メカニズム

優秀賞 6 年 山 本 浩 孝

ベラプロストは腎不全時に腎機能改善と尿毒症物質減少をもたらす

奨学賞 6 年 大 庭 悠 貴

Neural basis of creativity-modulation effect of contextual color : An fMRI study

奨学賞 6 年 坂 倉 悠 哉

GDF-15 は急性腎障害及び CKD の腎機能障害の早期診断マーカーとなる

奨学賞 6 年 佐々木 駿

The birth weights even within normal levels impact on the left inferior frontal gyrus volumes

奨学賞 6 年 十 亀 彩

Dual coding of tactics and action by neurons in primate posterior medial prefrontal cortex

(サル後内側前頭前野ニューロンは行動戦術とアクションの双方をコードする)

奨学賞 5 年 笹 川 瑛 貴

Estrogen Amplification and/or Dampening (17 β HSD1/2) in the so called 'ER negative' Triple Negative Breast Cancers (TNBC)

奨学賞 4 年 小 俣 文 弥

Loss in co-ordination between FOXA1 and AR may lead to more aggressive TNBC

奨学賞 4 年 佐 井 康 真

GEP-NET における Ki67 labeling index 評価の均てん化に向けての試み

奨学賞 4 年 三 浦 豪

Triple-negative 乳癌における Aromatase 及び 17 β HSD6 のアンドロゲン受容体, エストロゲン受容体 β との関係

奨学賞 4 年 小 黒 早 紀

ヒト巨核球分化におけるアナグレリドの作用機序について

奨学賞 4 年 櫻 井 一 貴

YNSA 治療の僧帽筋部位に対する影響の検討

奨学賞 4 年 末 松 拓 也

Indole derivative mitochonic acid MA-5 protects cell death of skin fibroblasts from patient with Kearns-Sayre Syndrome (KSS) independent of oxidative phosphorylation or glycolytic pathway

奨学賞 4 年 鈴 木 康 介

Inhibition of invasion by glycogen synthase kinase-3 beta inhibitors through dys-regulation of actin re-organisation via down-regulation of WAVE2

奨学賞 4 年 鈴 木 真奈美

黄連解毒湯のアルコール代謝への影響

奨学賞 3 年 小 嶋 崇 史

腹診シミュレータを用いた漢方医学教育の試み

奨学賞 3 年 富 樫 亮 史

初代培養アストロサイトにおける脂肪酸の増殖能への効果と Fabp7 の役割の
解析

奨学賞 2 年 太 田 悠 自

7 祝 辞

8 受賞者講演（金賞・銀賞）

9 閉 会

大規模臨床研究による日本の慢性心不全診療の 実態解明とエビデンスの構築

坂 田 泰 彦

東北大学大学院医学系研究科 循環器内科学分野



はじめに：社会の高齢化と 心不全パンデミック

慢性心不全とは“心筋障害により心臓のポンプ機能が低下し、末梢主要臓器の酸素需要量に見合うだけの血液量を絶対的または相対的に拍出できない状態であり、肺、体静脈系または両系にうっ血を来し日常生活に障害を生じた病態”と定義される¹⁾。現在世界中で心不全の増加が報告されており、心不全パンデミックと呼ぶべき事態が進行している^{2,3)}。2007年に65歳以上の高齢者の割合が全体の21%を超え、世界で初めて長高齢社会に突入したわが国においてもそれは例外ではない。我々が近年行った推計では日本では今後総人口は緩やかに減少する一方で、65歳以上の高齢者層の人口は増え続け、当面の間毎年30万人以上の高齢者が心不全を新たに発症する見込みであり、事態は深刻である(図1)²⁾。

第二次東北慢性心不全登録研究

東北大学が2006年よりわが国の心不全の診療実態調査を目的として関連23施設と共に行っている第二次東北慢性心不全登録(CHART-2)研究では、2010年までに10,219例を登録して死亡・心不全入院・心筋梗塞・脳卒中を主要エンドポイントとして現在も追跡調査を継続している(図3)^{4,8)}。その登録基準は、米国心臓協会(AHA)・米国心臓病学会(ACC)のガイドライン⁹⁾に基づき、既に発症した慢性心不全であるStageC/Dに加えてその前段階と位置づけられるStageA/B症例を含んでいる。CHART-2研究に登録されたStageC/Dの慢性心不全症例の平均年齢は男性68歳、女性72歳で、性別は男性が68%である。これらの症例における心不全の最も多い基礎疾患は虚血性心疾患(47.1%)であり、心筋症(19.5%)、僧房弁・大

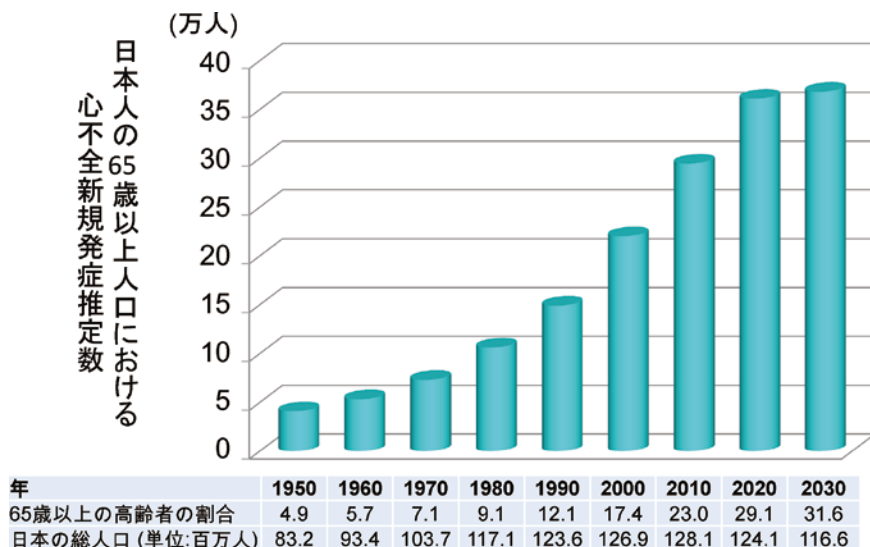
動脈弁疾患(10.5%)、高血圧性心疾患(6.0%)がこれに続く^{4,5)}。

虚血性心不全の増加

先行研究であるCHART-1研究(登録期間2000-2004年)と比較すると冠動脈疾患の保有率が23%から47%と欧米と並ぶ程に増加し、冠危険因子である高血圧や糖尿病の保有率も増加しており、わが国の慢性心不全症例における症例背景が近年急激に変化していることが明らかとなった^{3,4,6)}。こうした変化は疫学的にはEpidemiologic Transition⁹⁾と呼ばれ、社会の産業化・機械化により欧米諸国では既に過去に報告されており、アジアでも近年報告されつつある(図2)。しかしながら虚血性心不全の増加にはEpidemiologic Transitionに加えて、心筋梗塞生存退院例の症例背景が重症化していることも関与していると考えられる。こうした心筋梗塞後の心不全の増加は欧米でも以報告されており^{10,11)}、今後虚血性心不全に対する戦略の構築が求められている。

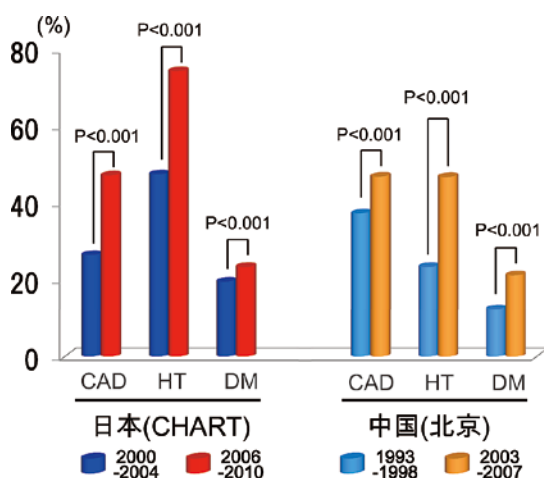
左室駆出率(EF)の保持された 心不全(HFpEF)の増加

高齢者心不全、虚血性心不全と並び、その大きな増加が注目されているのが左室駆出率(EF)の保持された心不全(HFpEF)である。HFpEFはAHA/ACCのガイドラインでは拡張機能不全の有無にかかわらず単純にEF 50%以上の心不全症例と定義される。一般に高齢になるほどHFpEFの頻度が上昇すると考えられているがCHART研究における検討では年齢層に関わらずHFpEFは近年増加を認めており²⁾、それは主に虚血性HFpEFの増加によることが明らかになっている⁶⁾。左室収縮能の低下した心不全(HFrEF)におけるとは異なり、残念ながら現時点ではHFpEFに対する有効な治療は治療はないが、我々はHFpEFにお



文献2より引用改変

図1. 日本における高齢者心不全発症数の増加



文献3より引用改変

図2. アジアにおける Epidemiologic Transition

けるスタチンの有用性に着目している⁷⁾. すなわち CHART-2 研究に登録された HFpEF 症例 3,124 例(平均年齢 69 歳, 男性 65%)を対象として傾向スコアを用いて患者背景やバイアスを調整して解析を行った結果, スタチン投与は全死亡(調整ハザード比 0.71: 95% 信頼区間, 0.62-0.82; P 値 <0.001), 特に突然死(調整ハザード比 0.59: 95% 信頼区間, 0.36-0.98; P 値 0.041)と感染症死(調整ハザード比 0.53: 95% 信頼区間, 0.35-0.77; P 値 0.001)の減少に関与すること

が示された⁷⁾.

女性の心不全

女性における心不全対策も重要である. CHART-2 研究において慢性心不全症例の予後と治療における性差を検討した結果⁴⁾, 男性と比較して女性は高齢(72 歳 vs 68 歳, $p<0.001$)であり, 虚血性心疾患, 糖尿病, 癌の既往は少ない一方で, HFpEF の頻度は高く(75% vs 66%, $p<0.001$), NYHA 分類は不良で BNP 値は高かった. 投薬に関しては女性では β 遮断薬, スタチンの処方頻度は少なく, 利尿薬の処方が多かった. 中央値 3.1 年の観察期間において総死亡発生頻度には性差を認めなかった(52.4/1,000 人・年 vs 47.3/1,000 人・年, $p=0.225$)が, 心血管死亡の発生頻度は女性で高かった. すなわちわが国の慢性心不全においては男性に比較して女性が重症であり, エビデンスに基づく薬物治療の浸透は不十分で, 心血管死亡は男性より多いことが明らかとなった. これまで慢性心不全症例の予後は女性では男性に比較して良好であるとされてきたが, 超高齢社会を迎えた日本の心不全診療においては既存の概念にとらわれない診療の必要性が示された.

終わりに

この度, 歴史ある医学部奨学賞金賞を光栄にも頂く

ことが出来ました。最後にこの場をお借りして、常日頃ご指導いただいている循環器内科学分野の下川宏明教授を始め、関係者の皆様方に深くお礼を申し上げます。循環器内科では世界で初めて超高齢社会を迎えた日本のエビデンスは、我が国に引き続いて超高齢社会を迎えるアジア、欧米においても必ず有用であり、我々の責任は重大であると考えています。そのため今後も CHART-2 研究を継続し、超高齢社会における心不全のエビデンスを積み重ねていきたいと考えています。皆様引き続きどうぞ宜しくご指導のほどお願い申し上げます。

文 献

- 1) 日本循環器学会学術委員会合同研究班 慢性心不全治療ガイドライン (2010 年改訂版) http://www.j-circ.or.jp/guideline/pdf/JCS2010_matsuzaki_h.pdf
- 2) Shimokawa, H., et al. (2015) Heart failure as a general pandemic in Asia. Review. *Eur. J. Heart Fail.*, **17**, 884-892.
- 3) Sakata, Y. and Shimokawa, H. (2013) Epidemiology of heart failure in Asia. *Circ. J.*, **77**, 2209-2217.
- 4) Shiba, N., et al. (2011) Trend of westernization of etiology and clinical characteristics of heart failure patients in Japan. *Circ. J.*, **75**, 823-833.
- 5) Sakata, Y., et al. (2014) Gender differences in Clinical Characteristics, Treatments and Long-term Outcomes in Patients with Stage C/D Heart Failure—A Report from the CHART-2 Study—. *Circ. J.*, **78**, 428-435.
- 6) Ushigome, R., et al. (2015) Temporal trends in clinical characteristics, management and prognosis of patients with symptomatic heart failure in Japan—Report from the CHART Studies. *Circ. J.*, **79**, 2396-2407.
- 7) Nochioka, K., et al. (2015) Prognostic impact of statin use in patients with heart failure and preserved ejection fraction. *Circ. J.*, **79**, 574-582.
- 8) Yancy, C.W., et al. (2013) 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **62**, e147-239.
- 9) Yusuf, S., et al. (2001) Global burden of cardiovascular diseases: part I: general considerations, the epidemiologic transition, risk factors, and impact of urbanization. *Circulation*, **104**, 2746-2753.
- 10) Ezekowitz, J.A., et al. (2009) Declining in-hospital mortality and increasing heart failure incidence in elderly patients with first myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **53**, 13-20.
- 11) Velagaleti, R.S., et al. (2008) Long-term trends in the incidence of heart failure after myocardial infarction. *Circulation*, **118**, 2057-2062.

原発性アルドステロン症の分子病態メカニズムの解明

中 村 保 宏

東北大学大学院医学系研究科 病理診断学分野



はじめに

原発性アルドステロン症 (PA) は、副腎病変からのアルドステロン過剰産生・分泌により起因する 2 次性高血圧症で、本邦の全高血圧患者の 1 割強を占めている。1955 年に Conn が世界で初めて症例を報告し、本邦では 1957 年に東北大学第二内科島飼教授が第 1 例を報告している。PA 患者では、同等の血圧動態を示す本態性高血圧患者と比べて心血管系臓器障害合併率が有意に高いことが知られている¹⁾。加えて PA 患者では本態性高血圧と診断され長期間多剤併用療法を受ける難治性高血圧症例が少なくないことから、その早期確定診断が極めて重要である。また、病理学的には PA はアルドステロン過剰産生を示す副腎皮質腺腫 (APA) と原発性副腎皮質過形成 (IHA) の 2 つに大別されるが、両者の治療方針は大きく異なる。一方、PA に関する基礎研究では、① PA での心血管系の臓器障害機序、② PA 病的副腎組織の分子病態メカニズムの詳細は十分に解明されてはいなかった。更に、③ PA の確定診断は種々の生化学検査や画像診断、副腎静脈血サンプリング (AVS) 等により行われるものの、その亜型分類 (APA/IHA) や病変の局在に難渋するケースは決して少なくない。以上より、新しい補助的なバイオマーカーの確立が望まれていた。そこで我々は、上記 ①②③ に関する病態メカニズムの解明及び PA の術前診断に寄与する新規バイオマーカーの確立を試みた。

MDM2 を介したアルドステロンの直接作用による血管障害機序

上述のように、PA 患者では心血管系臓器障害合併率が非常に高いが、その機序として血管内 volume 増加による血圧上昇に加え、アルドステロンの標的臓器への直接作用による影響が重要ではないか、との仮説を立てた。その解明には、アルドステロンにより誘導

される遺伝子の検索が有用と考えられた。そこで我々は、cDNA マイクロアレイ解析や定量 RT-PCR 法等を用いて、ヒト血管平滑筋細胞では抗アポトーシス因子である MDM2 発現がアルドステロンの直接作用により誘導されることを初めて証明した²⁾。また、特異的 siRNA を用いた MDM2 発現のノックダウンにより、アルドステロンによる血管平滑筋細胞の増殖が抑制されることを示した²⁾。さらに、これらの *in vitro* での結果が実際の PA 患者でどうかという検討を行った結果、摘出された副腎周囲の小動脈では対照群に比して MDM2 蛋白が高発現していることを証明した²⁾。以上より、PA 患者での血管障害は血圧上昇という物理的機序に加え、アルドステロンによる血管壁への直接作用により MDM2 発現が誘導される結果リモデリングを生じることも重要であると考えられた。

PA 病的副腎組織からのアルドステロン過剰産生・分泌のメカニズム

(1) 病的副腎組織での 3-beta-hydroxysteroid dehydrogenase (HSD3B) 発現

アルドステロンは、通常正常副腎皮質の球状層で産生・分泌されるが、PA 症例の病的副腎組織ではその産生・分泌が過剰となる。その機序の 1 つとして、同組織内でのアルドステロン合成酵素発現の過剰及びその制御が重要であり、その合成酵素の代表的な 1 つが HSD3B である (図 1)。HSD3B は、これまでヒト正常及び病的副腎組織では type 2 (HSD3B2) のみが発現しているとされてきた。しかし、近年 Cry 欠損ノックアウトマウスで PA 様の病態を呈することが報告され、しかもその副腎組織ではヒト副腎の IHA に類似した病理組織像を示した³⁾。加えて、この過形成を呈する球状層細胞ではマウス 3-beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 6 が過剰発現していた³⁾。このサブタイプは、ヒト HSD3B の type 1 (HSD3B1) に相当することから、我々はヒト HSD3B1 と HSD3B2 に対する特異的モノクローナル抗体を用いて APA と IHA でこれら酵素のサブタイプの発現動態に関し免疫組織化学的

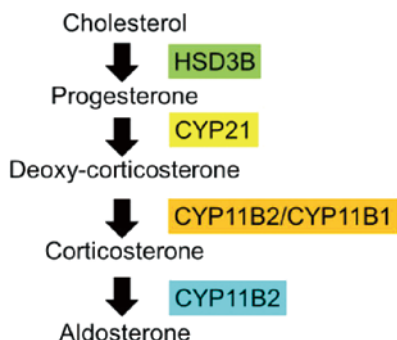


図 1. 副腎でのアルドステロンの合成経路

に検索を行った。その結果、APA での発現の主体は HSD3B2 であるのに対し、IHA では HSD3B2 と HSD3B1 の両者が強く発現していることを初めて証明した⁴⁾。一方、APA では HSD3B1 の発現そのものは決して高くはないものの、その腫瘍内発現量は他の重要なアルドステロン合成酵素である aldosterone synthase (CYP11B2) の発現量や APA 患者の末梢血中のアルドステロン濃度と有意な相関を示した⁵⁾。以上より、我々は PA 副腎組織での HSD3B1 と HSD3B2 のアルドステロン過剰産生・分泌に関する意義を明らかにすることが出来た。

(2) APA における異所性 gonadotropin-releasing hormone receptor (GnRHR) の発現

近年、APA では各種 G-protein-coupled receptor (GPCR) が異所性に発現していることが報告されている⁶⁾。そこで、我々は GPCR のうち GnRHR の APA での発現と機能に着目した。GnRHR は、通常下垂体で発現しており、リガンドに結合することで FSH (卵巣刺激ホルモン)、LH (黄体形成ホルモン) の産生・分泌制御に関与している。我々の検討でも、APA 組織で GnRHR タンパクの異所性発現が確認された⁷⁾。さらに、GnRHR を過剰発現させた副腎皮質腫瘍細胞株を確立後、リガンドである GnRH 投与により同細胞でのアルドステロン産生が著明に亢進するとともに、その機序として細胞内 Ca 伝達系が重要であることも初めて示すことが出来た⁷⁾。

(3) APA における KCNJ5 の体細胞変異

イオンチャネルである KCNJ5 の体細胞変異が、近年複数の APA 症例で報告された⁸⁾。KCNJ5 は、通常細胞内から細胞外に K イオンを排出することで細胞内を過分極に保つとされているが、この変異により細胞外から Na イオンが流入するため細胞内が脱分極と

なり、その結果細胞内 Ca 濃度が高くなることで、APA からのアルドステロン産生が過剰となると推定されている⁸⁾。我々の検討では、APA のうち KCNJ5 変異例では wild type 例に比べ CYP11B2 mRNA 発現量が有意に高値を示した⁹⁾。かつ、KCNJ5 変異例は検討した APA 全体の約 6 割を占めており、欧米で報告されている APA 症例 (約 3~4 割) と比較して有意に高い割合であった⁹⁻¹¹⁾。以上から、APA の遺伝子変異パターンには人種差が存在する可能性が示された。

原発性アルドステロン症の亜型分類における新規バイオマーカーの確立

PA の診断において、AVS は重要な役割を果たしている。この技法によってのみ PA の責任病巣の推定及び組織亜型分類 (APA ないし IHA) が可能となる症例も少なくない。しかし AVS の課題としては、設備や技術等の理由により実施できる施設が限定されていることや、AVS を実施しても病変の確定に至らない症例があること等が挙げられている。そこで、AVS の問題点を補う新しい診断バイオマーカーの検索が重要となってきている。PA の病的副腎組織では、CYP11B2 が過剰発現していることが知られているが、我々はその CYP11B2 により特異的に合成される 18-oxocortisol (18-oxoF) に着目した (図 2)。18-oxoF のフザリリン酸誘導体を作成後、高感度液体クロマトグラフィー測定系 (LC/MS/MS) を確立した。この測定方法を用いた副腎静脈・末梢血中の 18-oxoF 濃度測定を行なうことで、APA/IHA/本態性高血圧の臨床的鑑別及び病変の局在同定がより容易となる結果を初めて報告した^{12,13)}。

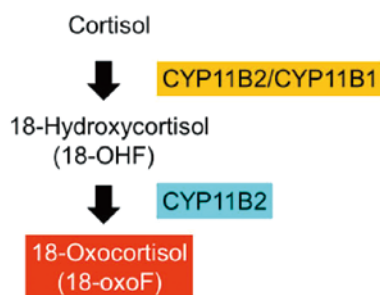


図 2. 18-Oxocortisol (18-oxoF) の合成経路

おわりに

PAの発症および臓器障害メカニズムには、様々な遺伝子の発現誘導、遺伝子変異等が複雑に関与していることが明らかとなった。臨床的に重要な点としては、難治性高血圧症や重篤な心血管障害を生じうるPAに對しいかに早期かつ適切に診断・治療を行うかである。今回確立された新規バイオマーカーである血中18-oxoF値測定がPA診断に有効となり、加えて患者の負担軽減及び医療費増加の抑制に貢献できる可能性が期待される。

謝 辞

本研究を行うにあたり、これまで多大なる御指導を賜りました東北大学大学院医学系研究科病理診断学分野笹野公伸教授、ならびに多くの教室員、共同研究者の方々に深謝申し上げます。

文 献

- 1) Milliez, P., Gierd, X., Plouin, P.F., et al. (2005) Evidence for an increased rate of cardiovascular events in patients with primary aldosteronism. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **45**, 1243-1248.
- 2) Nakamura, Y., Suzuki, S., Suzuki, T., et al. (2006) MDM2: a novel mineralocorticoid-responsive gene involved in aldosterone-induced human vascular structural remodeling. *Am. J. Pathol.*, **169**, 362-371.
- 3) Doi, M., Takahashi, Y., Komatsu, R., et al. (2010) Salt-sensitive hypertension in circadian clock-deficient Cry-null mice involves dysregulated adrenal Hsd3b6. *Nat. Med.*, **16**, 67-74.
- 4) Doi, M., Satoh, F., Maekawa, T., et al. (2014) Isoform-specific monoclonal antibodies against 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase/isomerase family provide markers for subclassification of human primary aldosteronism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **99**, E257-262.
- 5) Konosu-Fukaya, S., Nakamura, Y., Satoh, F., et al. (2015) 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase isoforms in human aldosterone-producing adenoma. *Mol. Cell. Endocrinol.*, **408**, 205-212.
- 6) Ye, P., Mariniello, B., Mantero, F., et al. (2007) G-protein-coupled receptors in aldosterone-producing adenomas: a potential cause of hyperaldosteronism. *J. Endocrinol.*, **195**, 39-48.
- 7) Nakamura, Y., Hattangady, N.G., Ye, P., et al. (2014) Aberrant gonadotropin-releasing hormone receptor (GnRHR) expression and its regulation of CYP11B2 expression and aldosterone production in adrenal aldosterone-producing adenoma (APA). *Mol. Cell. Endocrinol.*, **384**, 102-108.
- 8) Choi, M., Scholl, U.I., Yue, P., et al. (2011) K⁺ channel mutations in adrenal aldosterone-producing adenomas and hereditary hypertension. *Science*, **331**, 768-772.
- 9) Felizola, S.J., Nakamura, Y., Ono, Y., et al. (2014) PCP4: a regulator of aldosterone synthesis in human adrenocortical tissues. *J. Mol. Endocrinol.*, **52**, 159-167.
- 10) Rossi, G.P., Cesari, M., Letizia, C., et al. (2014) KCNJ5 gene somatic mutations affect cardiac remodeling but do not preclude cure of high blood pressure and regression of left ventricular hypertrophy in primary aldosteronism. *J. Hypertens.*, **32**, 1514-1521.
- 11) Fernandes-Rosa, F.L., Williams, T.A., Riester, A., et al. (2014) Genetic spectrum and clinical correlates of somatic mutations in aldosterone-producing adenoma. *Hypertension*, **64**, 354-361.
- 12) Nakamura, Y., Satoh, F., Morimoto, R., et al. (2011) 18-oxocortisol measurement in adrenal vein sampling as a biomarker for subclassifying primary aldosteronism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **96**, E1272-1278.
- 13) Satoh, F., Morimoto, R., Ono, Y., et al. (2015) Measurement of peripheral plasma 18-oxocortisol can discriminate unilateral adenoma from bilateral diseases in patients with primary aldosteronism. *Hypertension*, **65**, 1096-1102.

獲得性クロイツフェルト・ヤコブ病の確定診断法の確立

小 林 篤 史

北海道大学大学院獣医学研究科 比較病理学教室



はじめに

クロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD) は、正常型プリオン蛋白の立体構造変化により生じる異常型プリオン蛋白 (いわゆるプリオン) が脳に蓄積することで引き起こされる神経変性疾患である。有効な治療法が存在し

ない致死性の希少な難病で、プリオン蛋白異常化のメカニズムを含む病理発生機序については未だに解明の糸口すら見つかっていない。この CJD 患者の中には、プリオン感染が原因となって罹患する症例が含まれており、加齢に伴って発病する孤発性 CJD や遺伝子変異が原因の遺伝性 CJD とは区別して獲得性 CJD と呼ばれる。実験的には、プリオン感染は脳内、静脈内、腹腔内、皮下、経口、経皮 (創傷) のいずれの接種経路からも成立することが知られている。

CJD は長い潜伏期間が特徴であり、マウスなどへの感染実験では発症のはるか以前から異常型プリオン蛋白の蓄積がみられる (図 1)。このことは CJD 患者においても症状出現のかなり前から異常型プリオン蛋白が蓄積することを示しており、これらの患者が発症前に脳外科手術や眼科手術を受けた場合にも手術器具が汚染される可能性を示唆している。しかも、異常型プリオン蛋白は通常の滅菌法には抵抗性のため、プリオン対応の滅菌不活化処理を施さない限り、手術器具を介した医原性感染は阻止できない。現に、わが国では 2004 年から 2012 年までの 8 年間に 13 例のインシデント事例 (プリオン病と診断されるまでの 1 年以内に脳外科手術を受けた事例) が発生し、同じ器具で手術を受けた 263 名に告知がなされている。

さらに問題なことに、本当は CJD であるのに適切に診断されていない認知症患者が少なからず存在することも明らかになってきた。わが国では CJD と診断される年間の新規患者数が 2000 年から 2010 年までの 10 年間でおよそ 2 倍に増加した。同様の増加は米国、カナダ、スイスなどでも報告されている。これは高齢

人口の増加によるものではなく、CJD の認識 recognition が改善されたことが原因と考えられている。もし、正しく診断されていない CJD 患者からの医原性感染が起きた場合、それを孤発性 CJD と鑑別する方法は存在しない。

そこで本研究では、これまで見逃されてきた医原性感染、あるいは将来発生する医原性感染を適切に把握するため、獲得性 CJD と孤発性 CJD を正確に鑑別する方法を確立することを目指した。

獲得性 CJD 動物モデルにおける特異な病型

獲得性 CJD と孤発性 CJD を鑑別するための手がかりを得るため、われわれはまず獲得性 CJD の動物モデルを作製した。このモデル、すなわち孤発性 CJD プリオンを接種したプリオン蛋白ヒト化ノックインマウス、の病理像および蓄積する異常型プリオン蛋白の生化学的性質を調べたところ、興味深いことが明らかになった。プリオン蛋白遺伝子コドン 129 の正常多型がメチオニンホモ接合 (129M/M) のマウスに孤発性 CJD プリオン V2 株を接種した場合に、孤発性 CJD では決して見られることのない病型が出現したのである¹⁻⁴⁾ (図 2)。

獲得性 CJD 症例における特異な病型

さらに、われわれのその後の調査により、V2 株を接種した 129M/M マウスで見られた特異な病型 (129M/M の遺伝子型、intermediate type の異常型プリオン蛋白、kuru 斑) は、実際の獲得性 CJD 患者にも見られることが明らかになった。医原性感染による獲得性 CJD の中で最も発生頻度の高い硬膜移植関連 CJD の中で、約 3 割の症例が上記の特徴を示したのである^{1,5,6)}。獲得性 CJD 患者および動物モデルにおけるこれらの発見は、上記特徴により獲得性 CJD と孤発性 CJD の鑑別診断が可能であることを強く示唆していた。

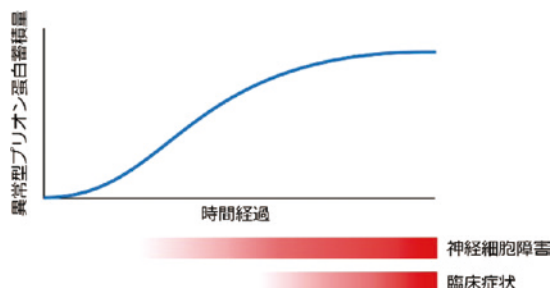


図 1. プリオン病進行のタイムコース

異常型プリオン蛋白が蓄積しはじめてから神経細胞障害や臨床症状が現れるまでには長い時間がかかる。マウスへの感染実験における発症までの潜伏期間は長い場合 3 年近くに及ぶが、CJD 患者の脳内には発症の何年前から異常型プリオン蛋白が蓄積するのかが明らかにされていない。

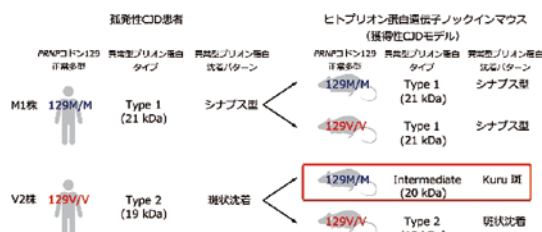


図 2. 獲得性 CJD 動物モデルにおける病型

医原性感染のモデルとしてヒトプリオン蛋白遺伝子ノックインマウスに孤発性 CJD プリオン M1 株あるいは V2 株を脳内接種した。すると、V2 株を接種した 129M/M の遺伝子型のマウス（赤枠）の脳には type 1 と type 2 の中間の分子量をもつ intermediate type の異常型プリオン蛋白の蓄積と、多数の kuru 斑がみとめられた。このような病型の組み合わせは孤発性 CJD では決して見られないことから、この特徴により獲得性 CJD と孤発性 CJD を鑑別できる可能性が出てきた。

見逃されていた医原性感染の発見

129M/M の遺伝子型、intermediate type の異常型プリオン蛋白、kuru 斑という組み合わせは獲得性 CJD であることを示す証拠になるとの考えのもと、われわれは過去の症例を再検索し、孤発性 CJD だと思っていた症例の中から獲得性 CJD 症例を同定することに成功した⁷⁾。これらの症例は上記の病理学的・生化学的特徴を示したほか、ヒト化マウスへの感染実験においても特徴的な感染性を示した（図 3）。通常、孤発性 CJD プリオンの感染実験では、宿主と接種材料の間でプリオン蛋白遺伝子コドン 129 の遺伝子型が一致する方が感染しやすい⁸⁾。それに対し、発見された

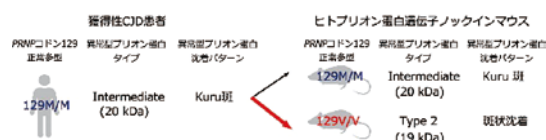


図 3. 獲得性 CJD プリオンの感染性

獲得性 CJD 疑い症例由来のプリオンはコドン 129 の遺伝子型が異なるにもかかわらず 129V/V マウスへ感染しやすく、感染源である孤発性 CJD プリオン V2 株と同様の感染性および病型を示した。

獲得性 CJD 疑い症例由来のプリオンは遺伝子型が一致しないにも関わらず 129V/V マウスに非常に感染しやすかったのである。さらに、同様の感染パターンは上述の kuru 斑を伴う硬膜移植関連 CJD 症例の感染実験でも確認された^{1,2)}。そして重要なことに、この感染パターンおよび感染マウスにおける病型は孤発性 CJD プリオン V2 株のそれと全く同じであったのである。これらの結果から、われわれは本研究で見出した症例は kuru 斑を伴う硬膜移植関連 CJD 症例同様、V2 株の感染によって引き起こされた獲得性 CJD であると結論づけた。

獲得性 CJD の診断基準

本研究により病理学的・生化学的特徴から獲得性 CJD を確定診断できることが実証された。これらの研究成果に基づき、われわれは獲得性 CJD の診断基準を提唱している（図 4）。この診断基準は見逃されてきた医原性感染や将来発生する医原性感染を適切に把握するために、今後有用となると考えられる。

結 語

獲得性 CJD を同定するための病理学的・生化学的特徴が明らかになった。なお、本研究で同定した獲得性 CJD 症例は脳外科医および脳外科手術歴のある患者であった。これまで、職業的曝露によるプリオン感染は起きないと信じられていたが、われわれの研究成果はこの楽観的な予想に疑問を投げかけている。このように本研究課題の波及効果として今後、医原性感染のリスクを伴う医療行為の同定が進むと予想される。今後は、欧米の研究拠点とも協力してこれまで見逃されていた獲得性 CJD 症例を広く検索する必要がある。そして、その検索を通じて医原性プリオン感染の発生状況を正しく把握し、感染経路を特定してそのリスクを排除し、将来の獲得性 CJD 撲滅に結びつけていか

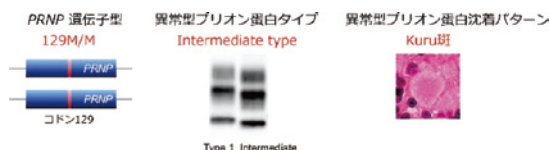


図 4. 獲得性 CJD の診断基準

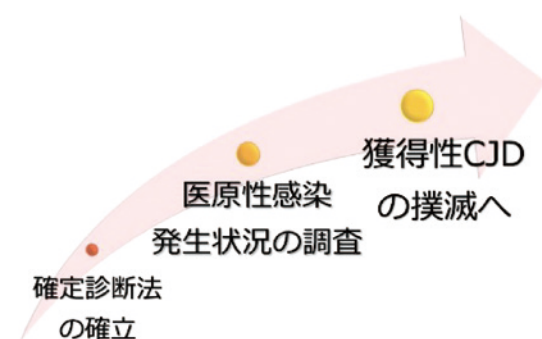


図 5. 今後の展開

本研究成果により獲得性 CJD の確定診断法が確立できた。今後は、この確定診断法を用い、これまで見逃されていた獲得性 CJD 症例を広く検索し、その感染経路を明らかにする。それにより医原性感染のリスクを伴う医療行為を明らかにし、将来的に医原性感染の発生をなくすことがわれわれの責務である。

なければならない。本研究成果はその最終目標へ向けた重要な第一歩である（図 5）。

謝 辞

本研究を実施するにあたりご指導を賜りました東北大学大学院医学系研究科病態神経学分野 北本哲之教授、毛利資郎客員教授に深謝いたします。また、ご協

力いただきました共同研究者各位、病態神経学分野の皆様にご心より御礼申し上げます。

文 献

- 1) Kobayashi, A., Asano, M., Mohri, S., et al. (2007) Cross-sequence transmission of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease creates a new prion strain. *J. Biol. Chem.*, **282** (41), 30022-30028.
- 2) Kobayashi, A., Sakuma, N., Matsuura, Y., et al. (2010) Experimental verification of a traceback phenomenon in prion infection. *J. Virol.*, **84** (7), 3230-3238.
- 3) Kobayashi, A., Iwasaki, S., Otsuka, H., et al. (2013) Deciphering the pathogenesis of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease with codon 129 M/V and type 2 abnormal prion protein. *Acta. Neuropathol. Commun.*, **1**, 74.
- 4) Kobayashi, A., Matsuura, Y., Iwaki, T., et al. (2015) Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease MM1+2C and MM1 are identical in transmission properties. *Brain Pathol.*, in press.
- 5) Kobayashi, A., Asano, M., Mohri, S., et al. (2009) A traceback phenomenon can reveal the origin of prion infection. *Neuropathology*, **29** (5), 619-624.
- 6) Kobayashi, A., Matsuura, Y., Mohri, S., et al. (2014) Distinct origins of dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease: past and future problems. *Acta. Neuropathol. Commun.*, **2**, 32.
- 7) Kobayashi, A., Parchi, P., Yamada, M., et al. (2015) Transmission properties of atypical Creutzfeldt-Jakob disease: a clue to disease etiology? *J. Virol.*, **89** (7), 3939-3946.
- 8) Kobayashi, A., Teruya, K., Matsuura, Y., et al. (2015) The influence of PRNP polymorphisms on human prion disease susceptibility: an update. *Acta. Neuropathol.*, **130** (2), 159-170.

脳内ヒスタミン除去機構の解明

吉 川 雄 朗

東北大学大学院医学系研究科 機能薬理学分野



背 景

ヒスタミンはアレルギー反応や胃酸分泌に関わる活性アミンであり、脳内では神経伝達物質として機能している。ヒスタミンは必須アミノ酸であるヒスチジンを基質とするヒスチジン炭酸酵素 (histidine decarboxylase, Hdc) により生合成される¹⁾。Hdc を発現するヒスタミン神経は視床下部後部の結節乳頭核に存在しており、そこから神経線維を脳全体に投射している。ヒスタミンの機能は睡眠覚醒サイクルの制御や不安、食欲、学習など多岐にわたっている²⁾。齧歯類を用いた実験では、脳内ヒスタミン系を抑制することで、記憶能低下や不安様行動など数多くの行動異常が観察される³⁾。ヒトにおいても、アルツハイマー病やナルコレプシー患者の脳脊髄液ヒスタミン濃度が低下しているなど、多くの中枢神経疾患でヒスタミン系の機能低下が生じている。従って、脳内ヒスタミン濃度を増加させることは脳機能の改善につながる可能性が十分考えられる。

神経伝達物質の除去は正常な神経伝達を維持する上で極めて重要である。シナプス間隙に放出された神経伝達物質は酵素によって不活化されるかトランスポーターによって取り除かれる。この機構は神経活動を制御する極めて重要な要素であり、セロトニン再取込阻害剤やモノアミン酸化酵素阻害剤は数多く開発され、神経疾患の患者さんに広く用いられている。しかし、脳内ヒスタミン除去機構は不明のままであり、ヒスタミン神経研究の大きな課題として残されていた。

ヒスタミン代謝酵素

ヒスタミンは二つの異なる酵素、diamine oxidase と histamine N-methyltransferase (HNMT) によって代謝される⁴⁾ (図 1)。しかし diamine oxidase は、主に末梢組織に発現しており、中枢神経系での作用はほとん

ど確認されていない。一方 HNMT は脳を含む多くの臓器に発現しており、HNMT の阻害剤により脳内ヒスタミン濃度が上昇することが報告されている⁵⁾。HNMT の生理的な役割については十分に解明されていなかったため、我々は HNMT 欠損マウスを作製・解析した。まず脳内ヒスタミン量を測定したところ、KO マウスで約 6 倍程度に上昇していることが明らかとなり、脳内ヒスタミン濃度制御における HNMT の重要性が示された。このマウスでは休息期である明期において覚醒時間の延長および睡眠時間の減少が認められ、睡眠覚醒サイクルに異常を来していた (図 2)。またレジデント・イントルーダー試験などで KO マウスは高い攻撃性を有していることが明らかとなった。以上のことから HNMT はヒスタミン濃度を維持し、睡眠覚醒サイクルや攻撃性を正常に保っていると考えられた。

HNMT の細胞内局在については様々な報告がなされており、細胞膜に局在して細胞外ヒスタミンを代謝する説と細胞質内に存在し細胞内ヒスタミンを分解する説が唱えられている。我々が新たに検討した結果、HNMT は細胞質に存在し、細胞内のヒスタミンを代謝していることが明らかとなった。従ってヒスタミンを代謝するためには、トランスポーターを介して細胞外から細胞質へとヒスタミンが輸送される必要があると考えられた。

ヒスタミントランスポーター

これまでの研究により、ヒスタミン除去が主にアストロサイトで行われることが報告されている⁶⁾。またヒスタミン輸送能を有するトランスポーターとして organic cation transporter 2 (OCT2), OCT3, plasma membrane monoamine transporter (PMAT) が存在する事が知られていた。そこで我々はヒトの初代培養アストロサイトを用いてどのトランスポーターがヒスタミン除去に関わっているかを検討した。[³H] ヒスタミンを用いた取り込み実験を行い、ヒスタミントランスポーターとして OCT3 と PMAT がアストロサイト

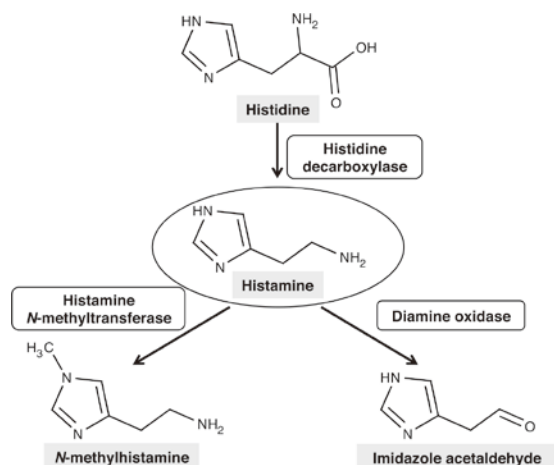


図 1. ヒスタミン代謝経路

ヒスタミンはヒスチジンから histidine decarboxylase によって生合成され, histamine N-methyltransferase あるいは diamine oxidase によって代謝される。

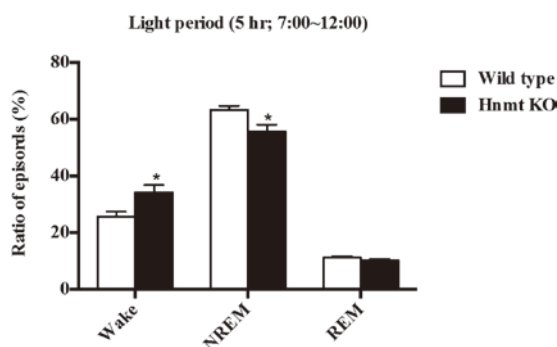


図 2. HNMT KO マウスにおける睡眠覚醒サイクルの異常

HNMT の欠損により休息機における覚醒時間が増加し, 睡眠時間が減少する。

におけるヒスタミン輸送に関わっていることを明らかにした^{7,8)}。またこれらのトランスポーターに対する阻害剤をマウスに投与したところ, 脳内遊離ヒスタミン濃度が上昇することを in vivo マイクロダイアリシス法を用いてマイクロダイアリシス法を用いて確認した。従って, 生体においても OCT3 や PMAT がヒスタミントランスポーターとして機能している可能性が示唆された。

結 語

以上のことからヒスタミン神経から放出されたヒス

タミンは OCT3 や PMAT によって細胞内へと輸送され, その後細胞質で HNMT によって代謝されているものと考えられた。現在ヒスタミン除去機構を薬理的に制御するために, OCT3, PMAT, HNMT に対する新規阻害剤の探索研究を行っている。上述したノックアウトマウスの解析および阻害剤の探索研究を平行して行い, ヒスタミン神経系の研究を更に発展させていきたい。これらの研究成果は, 中枢神経疾患の病態解明および新規治療薬開発へとつながるのではないかと期待している。

謝 辞

本研究を行うにあたり, ご指導を頂戴した東北大学大学院医学系研究科機能薬理学分野谷内一彦先生ならびに機能薬理学分野の皆様方に心より感謝申し上げます。

参 考 文 献

- 1) Watanabe, T., et al. (1983) Evidence for the presence of a histaminergic neuron system in the rat brain: an immunohistochemical analysis. *Neurosci. Lett.*, **39** (3), 249-254.
- 2) Yanai, K. and Tashiro, M. (2007) The physiological and pathophysiological roles of neuronal histamine: an insight from human positron emission tomography studies. *Pharmacol. Ther.*, **113** (1), 1-15.
- 3) Yoshikawa, T., et al. (2014) Insufficient intake of L-histidine reduces brain histamine and causes anxiety-like behaviors in male mice. *J. Nutr.*, **144** (10), 1637-1641.
- 4) Maintz, L. and Novak, N. (2007) Histamine and histamine intolerance. *Am. J. Clin. Nutr.*, **85** (5), 1185-1196.
- 5) Kitahara, J., et al. (2007) Blockade of brain histamine metabolism alters methamphetamine-induced expression pattern of stereotypy in mice via histamine H1 receptors. *Neuroscience*, **147** (3), 765-777.
- 6) Huszti, Z., et al. (1998) Glial cells participate in histamine inactivation in vivo. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **357** (1), 49-53.
- 7) Naganuma, F., et al. (2014) Predominant role of plasma membrane monoamine transporters in monoamine transport in 1321N1, a human astrocytoma-derived cell line. *J. Neurochem.*, **129** (4), 591-601.
- 8) Yoshikawa, T., et al. (2013) Molecular mechanism of histamine clearance by primary human astrocytes. *Glia*, **61** (6), 905-916.